

ROLE DES HORMONES STEROIDES ET DES FACTEURS EXTERNES DANS LE
CONTROLE DE LA FONCTION GONADOTROPE HYPOPHYSAIRE DE L'ANGUILLE EUROPEENNE
(*Anguilla anguilla* L.) FEMELLE

J. LELOUP-HATEY, Y.A. FONTAINE, S. DUFOUR et B. QUERAT
Laboratoire de Physiologie générale et comparée du Muséum
Laboratoire d'Endocrinologie comparée associé au C.N.R.S.
7, rue Cuvier, 75231 PARIŞ CEDEX 05

R E S U M E

La fonction gonadotrope (estimée par dosage radioimmunologique (RIA) pour la sous-unité β de l'hormone gonadotrope de carpe (cGTH)) est peu active chez l'anguille femelle d'eau douce : la teneur hypophysaire en GTH est de l'ordre de 15 ng d'équivalent cGTH/mg tissu frais et la teneur plasmatique est toujours inférieure à 1 ng d'équivalent cGTH/ml et souvent indétectable ($< 0,2$ ng équivalent cGTH/ml). La stéroïdogénèse ovarienne est également basse. Les taux plasmatiques de testostérone libre (T) et d'oestradiol libre (E_2) sont inférieurs à 0,3ng/ml (RIA). Un apport d' E_2 entraîne une forte augmentation de la teneur hypophysaire en GTH (jusqu'à 1000 fois) sans que le taux plasmatique soit modifié. La stimulation de la fonction gonadotrope et le développement des ovaires doivent se produire sous l'influence des facteurs externes rencontrés lors de la migration vers la mer des Sargasses. L'adaptation à l'eau de mer entraîne une élévation massive (jusqu'à 200 fois) de la production de E_2 sans modification de celle de T ; en revanche, aucune modification décelable de la fonction gonadotrope, ni aucun développement des ovaires n'ont été observés. La salinité doit probablement intervenir en synergie avec d'autres facteurs du milieu pour déterminer le développement ovarien pendant la migration marine.

A B S T R A C T

Gonadotropic activity (estimated by radioimmunoassay (RIA) for β subunit of carp gonadotropin (cGTH)) is relatively low in the female freshwater (FW) eel : pituitary GTH was about 15 ng equivalent cGTH/mg fresh tissue. Plasma GTH was always less than 1 ng equivalent cGTH/ml and often undetectable (< 0.2 ng equivalent cGTH/ml). Ovarian steroidogenesis in FW fish is similarly low ; plasma concentration of both free testosterone (T) and free estradiol (E_2) were less than 0.3 ng/ml as measured by RIA. Treatment with E_2 in FW fish caused a great increase in pituitary GTH, up to 1000 times control values, without changing plasma GTH. Stimulation of gonadotropic activity and ovarian development occur during the eel's migration to the Sargasso Sea. Adaptation to seawater (SW) caused a great increase of plasma E_2 concentration (up to 200 times that in FW fish) without modifying that of T. However, adaptation to SW did not cause any detectable change in gonadotropic activity or ovarian development. Environmental factors other than salinity probably are involved also in the process of ovarian development.

M O T S - C L E S : Anguille, gonadotropine, stéroïds sexuels, facteurs externes.

K E Y W O R D S : Eel, gonadotropin, sexual steroids, environmental factors.

Le cycle biologique de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.) est original à plusieurs égards. Les larves (leptocephales) migrent de la mer des Sargasses (où les plus petites ont été pêchées) jusqu'au plateau continental européen où elles se transforment en anguillettes (civelles). Ces dernières remontent plus ou moins loin les rivières et mènent ensuite une vie sédentaire pendant une longue phase de croissance (anguilles jaunes). Après 10 à 20 ans, ces animaux se transforment en anguilles "argentées" qui entament leur migration vers les eaux marines puis, sans doute, vers la mer des Sargasses. C'est là que la reproduction de l'anguille est supposée s'effectuer mais on n'en possède aucune preuve directe. Les gonades, en particulier les ovaires (nous nous bornerons ici aux résultats obtenus chez les femelles) restent immatures durant toute la vie en eau douce, y compris au stade argenté (Fontaine M. et al., 1964 ; Fontaine Y.A. et al., 1976) et aucune maturation sexuelle spontanée n'a été observée. Des injections d'extraits d'hypophyses de carpes ou d'hormones gonadotropes sont par contre capables de déclencher cette maturation (Fontaine M. et al., 1964 ; Fontaine Y.A. et al., 1976). Ainsi, l'absence de développement des ovaires chez l'anguille en eau douce doit être due à une insuffisance de la fonction gonadotrope de l'animal lui-même. Cette fonction gonadotrope doit être activée durant la migration vers la mer des Sargasses sous l'influence, directe ou indirecte, de facteurs du milieu extérieur. Par ailleurs, les hormones stéroïdes (qui exercent de façon très générale des rétrocontrôles sur la fonction gonadotrope des vertébrés) sont susceptibles de jouer un rôle dans le blocage apparent ou le déblocage de la fonction gonadotrope. L'étude de la validité de ces hypothèses nous a guidés dans le travail dont nous présentons ici les premiers résultats.

I - MATERIEL et METHODES

A. Animaux

Les anguilles proviennent des étangs de Péronne (Somme) où elles sont pêchées au moment de la migration d'avalaison. Elles sont ensuite conservées au laboratoire, dans des conditions standard ; dans des bacs en eau douce courante, soumis à la photopériode et à la température naturelles, sauf indications contraires précisées dans la description des expériences.

B. Traitements

Cathétérisation : un cathéter est préalablement inséré dans l'artère pulmonaire (artère irriguant la vessie natatoire ; Leloup-Hatey, 1976) de certaines anguilles destinées à une étude des paramètres du métabolisme des stéroïdes sexuels ou à la recherche des pulsations sécrétoires de l'hormone gonadotrope.

Traitements hormonaux : des injections de divers stéroïdes en suspension dans une solution saline (Na Cl 0,15 M) sont faites dans la cavité générale.

C. Sacrifice et prélèvements

Les animaux sont sacrifiés par décapitation. Le sang est recueilli sur héparine et le plasma obtenu après centrifugation est conservé à - 20°C jusqu'à son utilisation.

L'hypophyse est rapidement prélevée, pesée et congelée à - 20°C jusqu'à l'extraction réalisée par broyage avec un mini ultra Turax dans du tampon phosphate 0,01 M pH 7,4 contenant du NaCl (0,15 M).

Les ovaires sont prélevés en totalité et pesés pour calculer le rapport gonadosomatique ($\frac{\text{poids des ovaires}}{\text{poids du corps}} \times 100$).

Des fragments de 200 mg sont prélevés dans la partie médiane de l'ovaire pour une étude de la stéroïdogénèse ovarienne.

D. Dosage radioimmunologique (RIA) de l'hormone gonadotrope (GTH) d'anguille

Un RIA préalablement établi pour la sous-unité β de la GTH de carpe (cGTH) (Burzawa-Gérard et Kerdelhué, 1978), et qui montre une faible spécificité zoologique (Dufour et al., 1979 ; Burzawa-Gérard et al., 1980) a été utilisé. Le développement et la validation de ce RIA hétérologue pour la GTH d'anguille ont été décrits (Dufour et al., 1983 a). Une préparation partiellement purifiée de GTH d'anguille, obtenue après filtration sur Sephadex G100 d'un extrait salin de 1400 hypophyses d'anguille est utilisée comme standard (ang GTH STD); l'activité de ce standard, estimée *in vitro* sur la concentration en adénosine monophosphate cyclique dans des fragments d'ovaire d'anguille, selon la méthode de Fontaine-Bertrand et al., 1978, est 500 fois plus faible que celle de la cGTH (Dufour et al., 1983 a). Chaque échantillon d'hypophyse ou de sérum d'anguille est dosé à plusieurs dilutions et en duplicats ; la concentration en GTH est déterminée relativement au standard ang GTH STD, par analyse de covariance dans la partie linéaire des courbes d'inhibition de liaison ; une estimation en "équivalent cGTH" est obtenue d'après le rapport (500) d'activité des deux standards.

E. Stéroïdogénèse ovarienne

Les incubations d'ovaire sont faites dans un milieu mis au point pour l'étude *in vitro* de l'ovaire des Téléostéens (Jalabert, 1976) et tamponné à pH 8.0 par de la soude et de l'hépès. Des précurseurs tritiés : prégnénolone, progestérone, androsténone et testostérone sont ajoutés au milieu. Les composés radioactifs éthérosolubles synthétisés en 5 heures à 13°C sont purifiés par chromatographie sur colonne de célite imprégnée d'éthylène glycol (Siiteri, 1975). Les composés sont élués par un mélange isooctane-acétate d'éthyle (la concentration en acétate d'éthyle du mélange croissant selon un gradient exponentiel). Leur identification est faite dans les effluents par les méthodes classiques (isopolarité, avant et après transformation chimique, activité spécifique constante au cours de cristallisations répétées).

F. Dosage radioimmunologique des stéroïdes du plasma

11-oxotestostérone, testostérone et oestradiol ont été dosés sur des extraits à l'éther éthylique obtenus avant (fraction libre), puis après hydrolyse à la β -glucuronidase (fraction glucuroconjugée) du plasma.

La haute spécificité de l'immunsérum anti-11-oxotestostérone (fourni par le Laboratoire de Physiologie des Poissons, I.N.R.A. de Rennes) permet un dosage direct sur les extraits plasmatiques. La mesure est faite selon le protocole décrit par Fostier et al. (1982) ; le stéroïde lié à l'immunsérum est mesuré après sa précipitation par le polyéthylène glycol.

La spécificité des immunsérums antitestostérone et antioestradiol (fournis par le Lab. de Physiologie de la Reproduction, I.N.R.A. de Nouzilly), n'a pas permis le dosage direct de la testostérone et de l'oestradiol sur les extraits plasmatiques. Une purification préalable sur colonne de chromatolithe A (Biomérieux) est réalisée. Les stéroïdes sont élués par un mélange isooctane : acétate d'éthyle. Les dosages radioimmunologiques sont faits sur les effluents contenant testostérone ou oestradiol : la fraction du stéroïde liée à l'immunsérum est évaluée après adsorption de la fraction libre par du charbon dextran. Les teneurs sont exprimées en ng de stéroïde par ml de plasma.

G. Métabolisme des stéroïdes sexuels

Une étude du métabolisme des stéroïdes sexuels a été effectuée par une méthode classique utilisée depuis longtemps chez les Mammifères (Tait et Burstein, 1964). Après injection intraartérielle d'une dose traceuse du stéroïde tritié, la

Tableau 1 - Teneur hypophysaire en GTH chez différents lots d'anguilles dans les conditions standard.

Lot : (nombre d'animaux et date d'arrivée au Laboratoire)	Poids du corps (g)	RGS (%)	GTH hypophysaire (μg ang GTH STD/mg hypophyse fraîche)
(7) - octobre 1978	187 \pm 7	1,37 \pm 0,07	2,08 \pm 1,02
(4) - avril 1980	708 \pm 163	1,27 \pm 0,14	13,2 \pm 4,4
(17) - mai 1980	311 \pm 37	0,90 \pm 0,09	3,76 \pm 1,07
(10) - octobre 1980	260 \pm 6	1,66 \pm 0,05	24,5*
(10) - décembre 1981	239 \pm 2	1,21 \pm 0,09	1,77*

* dosage sur l'ensemble des hypophyses.

Tableau 2 - Activités enzymatiques mises en évidence dans le tissu ovarien de l'anguille argentée en eau douce.
(Etude des produits libérés dans le milieu d'incubation).

Transformation "Précurseur \rightarrow Produit"	Activités enzymatiques correspondantes
Prégnénolone \rightarrow Progestérone	3 β -hydroxystéroïde deshydrogénase Δ_{4-5} isomérase
Progestérone \rightarrow Δ_4 -androstènedione (Δ_4)	17 α hydroxylase C ₂₁ - C ₁₉ desmolase
Δ_4 \rightarrow Testostérone	17 β hydroxylase
Δ_4 \rightarrow Oestradiol 17 β	aromatase
Δ_4 \rightarrow 5 α Androstanedione	5 α réductase
Action inhibitrice de la métopirone	11 β hydroxylase

courbe de décroissance de ce composé dans le plasma est établie et les paramètres du métabolisme calculés à partir d'elle. Cette méthode a été appliquée dans les conditions précédemment décrites pour mesurer le métabolisme du cortisol chez l'anguille (Leloup-Hatey, 1976). L'interprétation de la courbe de décroissance de la radioactivité plasmatique extractible à l'éther a été faite, dans le cas des stéroïdes sexuels, en adoptant un modèle à 2 compartiments.

La vitesse de clairance métabolique est exprimée en ml de plasma épurés du stéroïde par heure chez une anguille d'un kg.

La vitesse de production, en ng par heure chez une anguille d'un kg, est égale au produit de la vitesse de clairance métabolique par la concentration plasmatique.

H. Calculs statistiques

Pour chaque groupe expérimental, la moyenne est donnée avec son erreur standard.

L'homogénéité des valeurs des groupes expérimentaux est déterminée par le test de Bartlett et lorsque l'homogénéité est prouvée, les groupes sont comparés par une analyse de variance.

Dans quelque cas, le test U des valeurs non paramétriques de Mann et Whitney est utilisé (étude du métabolisme des stéroïdes sexuels et dans quelques autres cas précisés dans le texte).

II - RESULTATS

A. Fonction gonadotrope, stéroïdogénèse ovarienne et stéroïdes sexuels plasmatiques chez l'anguille en conditions standard.

Les teneurs hypophysaires en GTH, qui montrent une grande variabilité (tableau 1), sont en moyenne de l'ordre de 8 μ g ang GTH-STD/mg d'hypophyse fraîche, soit l'équivalent de 16 ng cGTH/mg. La GTH est souvent indétectable dans le sérum ou le plasma (< 0,2 ng d'équivalent cGTH/ml) et en tous cas inférieure à 1 ng/ml.

En ce qui concerne la stéroïdogénèse, nous avons montré que l'ovaire synthétise des Δ_4 -prégnènes et est capable de transformer ceux-ci en androgènes (type androsténone ou testostérone) puis en oestrogènes (type oestradiol-17 β). Une nette activité 5 α -réductasique et une indéniable activité 11 β -hydroxylante sont également observées (tableau 2).

La testostérone, la 11-oxotestostérone et l'oestradiol sont présents dans le plasma des anguilles femelles, à des concentrations de 0,15 à 0,70 ng/ml, la moitié environ étant sous forme glucuroconjugée (tableau 3, eau douce). Les vitesses de clairance métabolique de l'oestradiol et de la testostérone sont respectivement de 0,50 \pm 0,08 et 1,89 \pm 0,11 ml de plasma épuré du stéroïde par heure chez un animal type d'un kg.

B. Rétro-contrôle des stéroïdes sexuels sur la fonction gonadotrope

Des injections répétées d'oestradiol déterminent une augmentation de la teneur hypophysaire en GTH. La réponse, significative après 11 injections de 0,625 μ g/g de poids du corps, croît très vite avec la dose ; des teneurs 1000 fois plus élevées que chez les témoins peuvent être observées (Dufour et al., 1983 b). Aucune augmentation de la GTH plasmatique n'est pourtant observée.

L'action de l'oestradiol sur l'hypophyse est spécifique : la testostérone ou la progestérone n'ont pas d'effet, tandis que le cortisol exerce une action

Tableau 3

Influence de l'adaptation à l'eau de mer sur les teneurs plasmatiques en testostérone, oestradiol et 11 oxotestostérone.

	Adaptation 1 mois		Adaptation 3 mois	
	Eau douce (conditions standard)	Eau de mer	Eau douce (conditions standard)	Eau de mer
Poids (g)	239 ± 8 (11)*	267 ± 8 (11)	226 ± 8 (8)	202 ± 13 (6)
RGS	1,57 ± 0,05 (11)	1,59 ± 0,08 (11)	2,05 ± 0,12 (8)	1,54 ± 0,02 (6)
Testostérone (ng/ml)	L 0,15 ± 0,04 (11)	0,21 ± 0,06 (11)	0,08 ± 0,02 (8)	0,09 ± 0,04 (6)
	G 0,16 ± 0,03 (4)	0,39 ± 0,16 (5)	0,10 ± 0,07 (4)	0,10 ± 0,04 (4)
	T 0,36 ± 0,14 (4)	0,58 ± 0,22 (5)	0,16 ± 0,02 (4)	0,12 ± 0,04 (4)
Oestradiol (ng/ml)	L 0,28 ± 0,13 (11)	22,2 ± 1,2 (11)	0,36 ± 0,15 (8)	8,08 ± 0,85 (6)
	G 0,30 ± 0,09 (5)	3,15 ± 0,49 (5)	0,14 ± 0,10 (4)	0,24 ± 0,19 (4)
	T 0,68 ± 0,34 (5)	26,2 ± 1,95 (5)	0,30 ± 0,12 (4)	7,72 ± 0,65 (4)
11 oxo- testostérone (ng/ml)	L 0,17 ± 0,05 (6)	0,30 ± 0,04 (10)	0,30 ± 0,09 (5)	0,24 ± 0,10 (5)
	G 0,10 ± 0,02 (6)	0,15 ± 0,02 (10)	0,20 ± 0,03 (5)	0,15 ± 0,02 (5)
	T 0,28 ± 0,07 (6)	0,45 ± 0,04 (10)	0,50 ± 0,12 (5)	0,39 ± 0,03 (5)

* Le nombre d'animaux est indiqué entre parenthèses

Température : 11,5 ± 0,5°C

L : fraction libre G : fraction glucuroconjuguée T : hormone totale (L + G)

Tableau 4 - Comparaison de l'action de différents stéroïdes sur la concentration hypophysaire en GTH immunoréactive chez l'anguille femelle.

Traitement *	0 (solution saline)	Progestérone	Testostérone	Cortisol	Oestradiol 17β
Poids du corps g	204 ± 15	224 ± 15	213 ± 14	219 ± 15	215 ± 19
RGS	1,04 ± 0,09	0,94 ± 0,13	1,37 ± 0,19	0,80 ± 0,08	1,33 ± 0,10
GTH hypophysaire (µg ang GTH STD/mg hypophyse fraîche)	0,56 ± 0,19	0,75 ± 0,23 NS	1,36 ± 0,68 NS	5,54 ± 1,15 p < 0,005	148,5 ± 78,5 p << 0,005

* Les animaux sont maintenus en eau douce à 20°C, en photopériode 8 L/16 D. Ils reçoivent 11 injections en 24 jours de 3,1 µg de stéroïde/g poids du corps ou de solution saline seule ; 5 animaux/lot.

qui, bien que significative, reste très faible (tableau 4).

C. Effets des facteurs externes

1 - Sur la fonction gonadotrope

Aucun effet significatif de la salinité (eau douce ou eau de mer), de la température (10 ou 20°) ou de la lumière (photopériode 8 h jour - 16 h nuit, ou noir complet) sur la teneur hypophysaire en GTH d'anguilles non traitées n'a été observé au bout de 26 j, ni au bout de 3 mois (tableau 5 pour l'expérience de 3 mois).

Un protocole expérimental similaire à celui décrit dans le tableau 5 (mais avec deux animaux par lot et une durée d'adaptation de 45 jours) a été appliqué à des anguilles parallèlement traitées à l'oestradiol (21 injections de 2 µg/g). Les résultats obtenus indiquent que, là aussi, la teneur hypophysaire en GTH n'est pas différente en eau douce et en eau de mer ; par contre, ils suggèrent que le noir complet est capable d'augmenter cette teneur (2225 ± 525 µg ang GTH STD/mg d'hypophyse pour les 4 animaux au noir à 10°C versus 859 ± 70 µg ang GTH STD/mg d'hypophyse pour les 4 animaux à 8 L/16 D à 10°C; test Mann-Whitney : $P < 0,05$).

Quant à la GTH circulante (dosée dans les échantillons sanguins obtenus au moment du sacrifice, c'est-à-dire entre 10 h et midi), elle reste très faible dans tous les lots, qu'il s'agisse d'anguilles traitées ou non à l'oestradiol ; elle est indétectable ou en tous cas $< 0,2$ µg ang GTH STD/ml, soit 0,4 ng d'équivalent cGTH/ml.

La présence éventuelle de pulsations de GTH qui auraient échappé à l'étude sur ces prélèvements ponctuels a été recherchée chez des anguilles de 400 à 690 g cathétérisées, adaptées depuis un mois à l'eau douce ou à l'eau de mer, à 10°C, sous une photopériode de 8 h jour - 16 h nuit (lumière allumée à 8 h 30). Des prélèvements de sang, effectués soit toutes les 3 heures pendant 24 heures, soit toutes les 90 mn de 15 à 22 h 30, soit toutes les 60 mn de 8 h à 17 h, ont montré des teneurs en GTH demeurant indétectables jusqu'à la dose de 100 µl, c'est-à-dire inférieures à 0,3 µg ang GTH STD/ml, soit 0,6 ng d'équivalent cGTH/ml.

2 - Sur les stéroïdes sexuels (taux plasmatiques et métabolisme)

En ce qui concerne les stéroïdes, un effet important de la salinité a par contre été mis en évidence. Chez des anguilles adaptées à l'eau de mer, l'oestradiol plasmatique est considérablement augmenté ($P < 0,01$), la fraction libre étant plus affectée que la fraction glucuroconjuguée ; cette élévation est moins importante après 3 mois qu'après 1 mois d'adaptation (tableau 3). Les taux plasmatiques de testostérone et de 11-oxotestostérone ne sont pas, quant à eux, modifiés significativement. Les vitesses de clairance métabolique ont été déterminées pour la testostérone et l'oestradiol libres ; la figure 1 montre qu'elles sont légèrement mais significativement augmentées en eau de mer. Il en résulte que les vitesses de production sont encore plus accrues en eau de mer que les teneurs plasmatiques (figure 1).

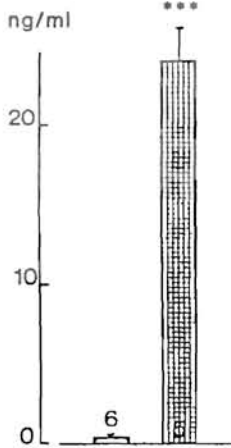
Dans chacune des expériences (tableaux 3 et 5) dont il vient d'être question, le RGS ne varie pas significativement d'un lot à un autre. Il n'est en particulier pas modifié sous l'influence de l'eau de mer.

III - DISCUSSION ET CONCLUSION

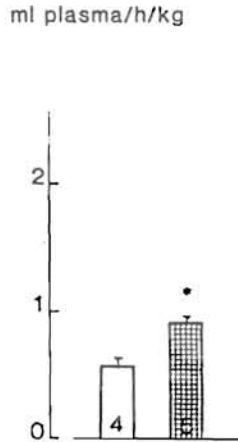
La teneur en GTH de l'hypophyse d'anguille argentée normale est voisine de celle trouvée chez le saumon juvénile (Crim et Peter, 1978) ou la truite juvénile (Crim et Evans, 1979) ; elle est environ 1000 fois plus basse que celle trouvée chez la carpe ou la truite matures (Weil, 1981). Les résultats obtenus avec le

œstradiol_{17β}

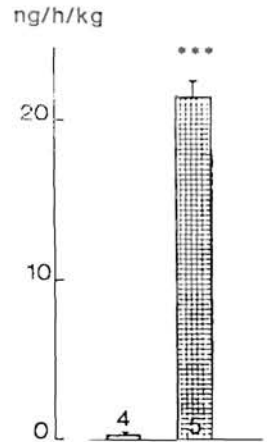
Teneur du plasma



Vitesse de clairance métabolique

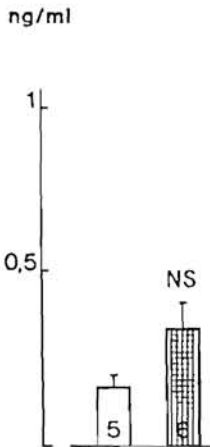


Vitesse de production

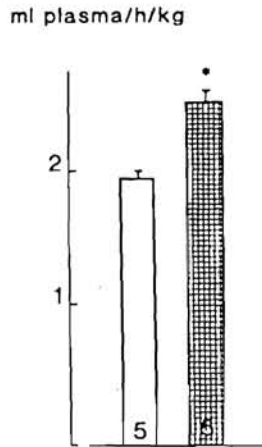


testostérone

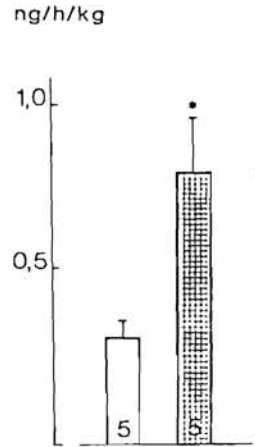
Teneur du plasma



Vitesse de clairance métabolique



Vitesse de production



□ eau douce ▨ eau de mer
(1 mois)

Saison: automne T°: 12°C

Figure 1 - Influence du changement de salinité du milieu extérieur sur le métabolisme des stéroïdes sexuels chez l'anguille argentée ♀.

Le nombre d'animaux est indiqué à la base des colonnes.

• P < 0,05

*** P < 0,01 (Test U de Mann et Whitney).

plasma sont également similaires à ceux d'autres auteurs travaillant sur des salmonidés immatures (Crim et Peter, 1978 ; Crim et Evans, 1979). Tout ceci confirme que l'activité gonadotrope de l'hypophyse est très faible chez l'anguille argentée en eau douce, en accord avec les données histologiques (Olivereau et Chambolle, 1978). Cette déficience gonadotrope explique que les taux de stéroïdes sexuels circulants soient eux-mêmes très bas, du même ordre que ceux mesurés chez des salmonidés juvéniles (Ng et Idler, 1980). On possède peu de données sur les clairances métaboliques des stéroïdes sexuels chez les poissons ; les valeurs obtenues ici sont faibles par rapport à celle trouvée pour la testostérone chez la Raie femelle mature (10 ml de plasma/kg/heure) (Fletcher et al, 1969) ou pour l'oestradiol chez la truite femelle au début de la période de recrudescence ovarienne (21 à 28 ml de plasma/kg/heure (Zohar, 1982).

Chez l'anguille ♂ l'oestradiol exerce un rétrocontrôle positif sur la biosynthèse de GTH comme il le fait chez des salmonidés immatures (Crim et Peter, 1978 ; Crim et Evans, 1979), mais aucune décharge de l'hormone n'est mise en évidence en accord donc avec les données histologiques d'Olivereau et Olivereau (1979).

L'hypophyse d'anguille est donc capable de répondre, comme celle de poissons juvéniles d'autres espèces, par une augmentation de la synthèse de GTH à une stimulation stéroïdienne : l'absence du mécanisme de rétrocontrôle positif sur la synthèse de gonadotropine ne peut donc être invoquée pour expliquer le blocage de la fonction gonadotrope chez l'anguille. L'effet positif des hormones stéroïdes sur la synthèse hypophysaire de GTH peut jouer un rôle physiologique important au cours de la maturation sexuelle de l'anguille, mais il apparaît dans nos expériences incapable de déclencher la puberté, du fait de la faible libération de GTH ; il n'intervient probablement, au cours de la puberté de l'anguille, qu'après une stimulation préalable du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire, en permettant une amplification de la synthèse de gonadotropine.

Aucune manipulation des facteurs du milieu extérieur ne nous a jusqu'ici permis de déclencher une sécrétion significative de la GTH hypophysaire. Les effets d'autres facteurs, et d'autres combinaisons de facteurs, sont en cours d'étude.

L'adaptation à l'eau de mer détermine une augmentation considérable de la production et du taux plasmatique d'oestradiol. Il n'en est pas de même pour la testostérone, ce qui signifie que l'aromatase est au moins autant stimulée que les activités enzymatiques intervenant dans la synthèse de la testostérone. La situation est différente de celle observée chez les anguilles subissant un traitement gonadotrope qui stimule la vitellogénèse (injection de l'extrait salin de 50 µg d'hypophyse de carpe/100 g poids du corps, 3 fois par semaine). On observe alors une élévation du taux plasmatique de l'oestradiol moins importante que chez les anguilles en eau de mer (maximum de $4,60 \pm 0,80$ ng/ml, après 7 semaines de traitement). Simultanément, contrairement à ce qui est observé chez les anguilles en eau de mer, le taux plasmatique de la testostérone croît jusqu'à une valeur maximale de $3,7 \pm 0,15$ ng/ml atteinte plus précocément (après 2 semaines) que pour l'oestradiol (Zohar, Querat et Leloup-Hatey, résultats inédits).

Quel est le mécanisme de l'augmentation de l'oestradiol circulant en eau de mer ? Si elle résulte d'une stimulation gonadotrope celle-ci doit rester faible puisque la GTH n'a pu être détectée dans le sang et puisque le RGS n'est pas modifié. Un mode de sécrétion pulsatile de la GTH a été démontré chez d'autres téléostéens, en particulier chez la truite, et les caractères de cette pulsativité varient en fonction du stade (Zohar, 1982). Chez l'anguille juvénile, les pulsations pourraient être telles que seule la stéroïdogénèse soit affectée ; leur intensité doit en tout cas être faible, étant donné la très petite quantité de GTH présente dans l'hypophyse, et elles n'ont jusqu'ici pu être détectées. On

doit aussi envisager la possibilité que la salinité détermine l'augmentation de l'oestradiol par une voie différente (sans stimulation gonadotrope) ; cette hypothèse est en cours d'étude.

Malgré l'augmentation de l'oestradiol plasmatique en eau de mer (jusqu'à 20 ng/ml), la teneur en GTH de l'hypophyse ne s'élève pas significativement contrairement à ce qui est observé chez les animaux injectés d'oestradiol (où quelques résultats préliminaires indiquent que la teneur plasmatique est en général supérieure à 100 ng/ml). Des différences dans l'intensité et le rythme des élévations de l'oestradiol plasmatique rendent probablement compte de cette différence.

Quoiqu'il en soit, même dans l'éventualité où le facteur salinité participe à la stimulation de la fonction gonadotrope, il ne doit jouer à lui seul qu'un rôle limité, il intervient probablement en synergie avec d'autres facteurs externes qui se manifestent au cours de la migration vers la Mer des Sargasses.

Tableau 5 - Etude de l'influence de différents facteurs externes sur la fonction gonadotrope chez l'anguille (4 animaux par lot).

Conditions externes (durée : 3 mois)	Poids du corps (g)	Rapport gonado- somatique = RGS (%)	(GTH) hypophysaire (μ g ang GTH STD/ mg hypophyse fraîche)
20°C lumière (8 L 16 D) eau douce	206 \pm 14	0,81 \pm 0,16	3,92 \pm 3,41
10°C lumière (8 L 16 D) eau douce	251 \pm 41	0,94 \pm 0,26	4,18 \pm 1,67
10°C lumière (8 L 16 D) eau de mer	250 \pm 25	0,93 \pm 0,06	3,40 \pm 2,28
10°C noir complet eau douce	226 \pm 18	0,84 \pm 0,19	4,25 \pm 2,27
10°C noir complet eau de mer	236 \pm 3,5	0,91 \pm 0,10	2,10 \pm 0,78

La cGTH β nous a été fournie par le Docteur E. BURZAWA-GERARD, l'anticorps anti cGTH β par les Docteurs E. BURZAWA-GERARD et B. KERDELHUE, les immunosérums antitestostérone et antioestradiol par le Docteur M. TERQUI, l'immunosérum anti-11-oxotestostérone par le Docteur A. FOSTIER. Nous leur exprimons à tous notre gratitude.

Nous remercions Mesdames N. DELERUE-LE BELLE et A. HARDY, Mademoiselle S. BALOCHE pour leur assistance technique, Madame F. LIERON, Messieurs C. GRIZARD et P. LAFAY pour l'aide apportée lors de la réalisation de cet article.

- Burzawa-Gérard E., Dufour S. et Fontaine Y.A., 1980 - Relations immunologiques entre les hormones glycoprotéiques hypophysaires de poissons et de mammifères, ainsi qu'entre leurs sous-unités α et β . Gen. Comp. Endocrinol., 41, p. 199-211.
- Burzawa-Gérard E. et Kerdelhué B., 1978 - Etude par radioimmunologie des propriétés des immunsérums de l'hormone gonadotrope de la carpe (Cyprinus carpio) et de ses sous-unités. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 18, p. 773-780.
- Crim L.W. et Peter R.E., 1978 - The influence of testosterone implantation in the brain and pituitary on pituitary gonadotropin levels in Atlantic Salmon parr. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 18, p. 689-694.
- Crim L.W. et Evans D.M., 1979 - Stimulation of pituitary gonadotropin by testosterone in juvenile rainbow trout (Salmo gairdneri). Gen. Comp. Endocrinol., 37, p. 192-196.
- Dufour S., Burzawa-Gérard E. et Fontaine Y.A., 1979 - Evolution des hormones glycoprotéiques hypophysaires : données radioimmunologiques sur les sous-unités de l'hormone gonadotrope de la carpe (Cyprinus carpio L.). C. R. Acad. Sc. Paris, sér. D, 289, p. 137-140.
- Dufour S., Delerue-Le Belle N. et Fontaine Y.A., 1983 a - Development of a heterologous radioimmunoassay for eel (Anguilla anguilla) gonadotropin. Gen. Comp. Endocrinol., 49, p. 404-413.
- Dufour S., Delerue-Le Belle N. et Fontaine Y.A., 1983 b - Effects of steroids hormones on pituitary immunoreactive gonadotropin in European fresh water eel, Anguilla anguilla L. Gen. Comp. Endocrinol., 52, p. 190-197.
- Fletcher G.L., Hardy D.C. et Idler D.R., 1969 - Testosterone production and metabolic clearance rates in sexually mature male and female skate (Raja radiata). Endocrinology, 85, p. 552-560.
- Fontaine M., Bertrand E., Lopez E. et Callamand O., 1964 - Sur la maturation des organes génitaux de l'anguille femelle (Anguilla anguilla L.) et l'émission spontanée des oeufs en aquarium. C. R. Acad. Sc., Paris, 259, p. 2907-2910.
- Fontaine Y.A., Lopez E., Delerue-Le Belle N., Fontaine-Bertrand E., Lallier F. et Salmon C., 1976 - Stimulation gonadotrope de l'ovaire chez l'anguille (Anguilla anguilla L.) hypophysectomisée. Morphologie, activité adényl cyclase et phosphodiesterase de l'adénosine monophosphate cyclique. J. Physiol., Paris, 72, p. 871-892.
- Fontaine-Bertrand E., Salmon C. et Fontaine Y.A., 1978 - Effet d'hormones gonadotropes in vitro, sur la concentration de l'adénosine monophosphate cyclique dans l'ovaire de l'anguille (Anguilla anguilla L.). Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 18, p. 805-811.
- Postier A., Billard R., Breton B., Legendre M. et Marlot J., 1982 - Plasma 11-oxotestosterone and gonadotropin during the beginning of spermiation in Rainbow Trout (Salmo gairdneri R.). Gen. Comp. Endocrinol., 46, p. 428-434.
- Jalabert B., 1976 - In vitro oocyte maturation and ovulation in Rainbow Trout (Salmo gairdneri), northern pike (Esox Lucius) and Goldfish (Carassius auratus). J. Fish. Res. Board. Can., 33, p. 974-988.

- Leloup-Hatey J., 1976 - Méthode de mesure des vitesses d'épuration métabolique et de sécrétion du cortisol chez l'anguille (Anguilla anguilla L.). Can. J. Physiol. Pharmacol., 48, p. 274-281.
- Ng T.B. et Idler D.R., 1980 - Gonadotropic regulation of androgen production in flounder and salmonids. Gen. Comp. Endocrinol., 42, p. 25-38.
- Olivereau M. et Chambolle P., 1978 - Ultrastructure des cellules gonadotropes de l'anguille normale et après injection d'oestradiol. C. R. Acad. Sc., Paris, sér. D, 287, p. 1409-1412.
- Olivereau M. et Olivereau J., 1979 - Effect of estradiol 17 β on the cytology of the liver, gonads and pituitary, and on plasma electrolytes in the female freshwater eel. Cell Tissue Res., 199, p. 431-454.
- Siiteri P.K., 1975 - A universal chromatographic system for the separation of steroid hormones and their metabolites. In "Methods in Enzymology", O'Malley W. and Hardman J.G. Eds, Acad. Press, N.Y., 34, Part A, p. 485-489.
- Tait J.F. et Burstein S., 1964 - In vivo studies of steroid dynamics in man. In "The hormones". Pincus G., Thimann K.V. et Astwood E.B. Eds, Acad. Press, N.Y., 5, p. 441-557.
- Weil C., 1981 - La fonction gonadotrope de l'hypophyse au cours du cycle sexuel chez deux poissons téléostéens, la carpe commune (Cyprinus carpio) et la truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri) ; son contrôle par l'hypothalamus, les gonades et les facteurs externes. Thèse, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 250 p.
- Zohar Y., 1982 - L'évolution de la pulsativité et des cycles nycthémeraux de la sécrétion gonadotrope chez la truite arc-en-ciel femelle, en relation avec le cycle sexuel annuel et par rapport à l'activité stéroïdogénèse de l'ovaire. Thèse, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 273 p.

- Travail soutenu en partie par les ATP "Bases biologiques de la reproduction" (C.N.E.X.O., C.N.R.S., Mission de la Recherche) et "Biologie de la reproduction et du développement" (C.N.R.S.).
